УДК 597.554.3:169-7-51

ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНА НА ИНВАЗИРОВАНИЕ KAPПA CYPRINUS CARPIO MOHOГЕНЕТИЧЕСКИМ СОСАЛЬЩИКОМ DACTYLOGYRUS VASTATOR

© В. Р. Микряков,* Д. В. Микряков, М. А. Степанова

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., 152742, *E-mail: mvr@ibiw.yaroslavl.ru
Поступила 15.12.2010

Изучено влияние инсулина на зараженность карпа *Cyprinus carpio* моногенетическим сосальщиком *Dactylogyrus vastator*. Рыбы на введение гормона реагировали снижением показателя интенсивности заражения и увеличением количества неживых паразитов на жабрах. Анализируется механизм влияния инсулина на интенсивность инвазии.

Ключевые слова: карп, гормоны, дактилогирусы, заражение.

Dactylogyrus vastator — моногенетический сосальщик, обитает на жаберных лепестках (Быховский, 1957), относится к условно-патогенным паразитам и представляет серьезную угрозу для молоди карпов (Бауер и др., 1981; Наумова, Ройтман, 1989; Головина и др., 2003). Патогенное влияние паразитов проявляется, когда их численность превышает оптимальный уровень и достигает летальной плотности на особь (Бауер, 1959; Кеннеди, 1978). Гиперинвазирование дактилогиридами в основном происходит на ослабленных воздействием стресс-факторов рыбах: при голодании, резких перепадах температур, транспортировке, загрязнении воды поллютантами, дефиците кислорода и т. д. (Бауер и др., 1981; Наумова, Ройтман, 1989; Головина и др., 2003).

Известно, что рыбы на стрессовые факторы реагируют активацией синтеза гормонов стресса адреналина и кортизола (Wendelaar Bonga, Sjoerd, 1997), изменением метаболических и иммунологических функций и устойчивостью рыб к паразитам, вызывающим инфекционные и инвазионные болезни (Wedermeyr et al., 1976; Smith, 1982; Wendelaar Bonga, Sjoerd, 1997; Van Muiswinkel, Vervoorn-Van Der Wal, 2006; Микряков, Микряков, 2008; Микряков и др., 2009). Кортизол считается одним из основных гормонов, вызывающих подавление функций защиты иммун-

ной системы и нарушение паразито-хозяинных отношений (Wendelaar Bonga, Sjoerd, 1997; Микряков, Микряков, 2008; Микряков и др., 2009). Это заключение находится в соответствии с данными экспериментальных исследований по изучению влияния кортизола и его производных на иммунитет рыб к условно-патогенным бактериям, грибам и дактилогирусам (Микряков, 1981; Микряков, Микряков, 2008; Микряков и др., 2009).

На основе анализа результатов исследования влияния гормонов стресса, адреналина, синтетических аналогов кортизола (гидрокортизона и преднизолона) на инвазирование карпов *Dactylogyrus* sp. (Микряков и др., 2009) мы предположили, что используемые гормоны способствуют созданию благоприятных условий для интенсивного роста и развития дактилогирид на хозяевах в результате подавления механизмов иммунитета и усиления катаболических процессов, приводящих к увеличению содержания в организме хозяина избыточного количества продуктов распада белков, углеводов и жиров, доступных для удовлетворения пищевых потребностей паразитов.

Для проверки этого предположения представлялось интересным изучить изменение характера инвазирования рыб дактилогиридами под влиянием гормонов, вызывающих противоположные эффекты на иммунологические и метаболические процессы.

Целью настоящей работы было исследование показателей зараженности дактилогирусами рыб после введения инсулина.

материал и методика

Опыты проводились в аквариальных условиях на сеголетках карпа Сурrinus carpio. Рыб содержали в принудительно аэрируемых аквариумах при температуре воды 18—20 °C. В качестве гормонального препарата использовали бринсулмиди МК (суспензия цинк-инсулина) ЗАО «Брынцалов-А». Инсулин, антагонист гормонов стресса, стимулирует процессы анаболизма и иммуногенеза, а также обладает антикатаболическим эффектом (Шрейбер, 1987; Корнева, Шхинек, 1988). Для достоверной проверки положения и полноты исследования параллельно 2 экспериментальные группы карпов инъецировали гидрокортизоном венгерской фирмы «Рихтер» и адреналином Московского эндокринного завода. Обработку рыб гормонами проводили путем внутрибрющинных инъекций: инсулин — 12 ед на кг веса, что достигалось разведением гормона по методике рекомендованной Кузьминой (1971), гидрокортизон — 0.2 мл на особь, что соответствует уровню кортизола стрессированных рыб (Лав, 1976). Сбор материала осуществляли через 1, 3, 7 и 28 сут после инъекции гормонов. Эффективность влияния гормонов на зараженность опытных рыб дактилогирусами сравнивали с данными интактных карпов, которые получены перед началом опыта и контрольных особей, которым сделали внутрибрющинные инъекции физиологического раствора (в дозе 0.2 мл на особь).

Паразитологический анализ рыб проводили по общепринятой методике (Быховская-Павловская, 1985). Зараженность рыб оценивали по показателям экстенсивности и интенсивности (индексу обилия) дактилогирид, при-

Экстенсивность инвазии карпов дактилогирусами после инъекции гормональных препаратов, %

Extensiveness of invasion of carps by dactylogyrids after the injection of hormonal preparations, %

Сроки сбора материала (до и после инъекции, сутки)	Контроль	Адреналин	Гидрокортизон	Инсулин
До инъекции	80			
1	80	100	100	100
3	80	100	100	100
7	80	100	100	66.6
28	100	100	100	100

ходящихся на 1 особь, а также по доле содержания на жабрах неживых паразитов.

Результаты исследований подвергали статистической обработке при помощи стандартного пакета программ (приложение Statistica).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что используемые гормоны поразному влияют на инвазирование карпа D. vastator (см. таблицу, рис. 1). Опытные рыбы отличались от контрольных и интактных особей по показателям экстенсивности и интенсивности заражения, а также по количеству живых и неживых моногеней (рис. 2).

Экстенсивность инвазии у всех опытных карпов практически во все сроки наблюдения превышала показатели интактных и контрольных рыб (см. таблицу). Снижение исследуемого показателя ниже контрольного уровня отмечено у рыб, получивших инъекцию инсулина на 7-е сут после введения гормона.

По интенсивности заражения и содержанию неживых червей опытные рыбы, которым были сделаны инъекции гидрокортизона, адреналина и инсулина, отличались не только от интактных и контрольных особей, но и между собой.

Рыбы на введение адреналина на первых этапах реагировали увеличением индекса обилия паразитов (рис. 1) более чем в 4.5—5 раз, а к концу срока наблюдения — снижением по сравнению с таковыми, получившими инъекцию физиологического раствора.

Количественные характеристики индекса обилия дактилогирусов у рыб, получивших инъекции аналога кортизола превышали таковые контрольных более чем в 5—10 раз, особей, обработанных адреналином, более чем в 3—5 раз (рис. 1).

Исследуемые показатели рыб, обработанных инсулином, отличались от таковых, получающих инъекции адреналина и кортизола, низкими величинами индекса обилия (рис. 1) и высоким уровнем содержания неживых дактилогирид (рис. 2).

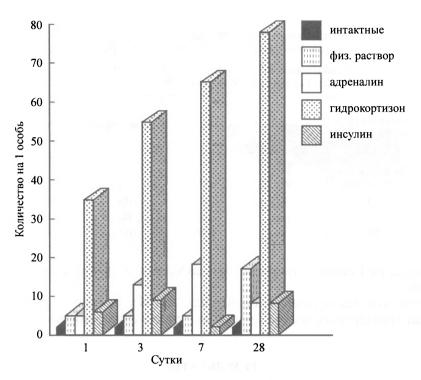


Рис. 1. Интенсивность инвазии карпов дактилогирусами после инъекции гормональными препаратами.

Fig. 1. Intensity of invasion of carps by dactylogyrids after the injection of hormonal preparations.



Рис. 2. Количество неживых дактилогирусов после инъекции гормональными препаратами, %. Fig. 2. Quantity of lifeless dactylogyrids after the injection of hormonal preparations, %.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных свидетельствует о зависимости интенсивности заражения рыб моногенетическими сосальщиками от природы используемого гормона. У опытных рыб по сравнению с контрольными после введения адреналина и гидрокортизона зараженность дактилогиридами увеличивается, а инсулина — снижается.

Выявленное различие в интенсивности инвазирования рыб моногенетическими сосальщиками на воздействие адреналина, аналога кортизола и инсулина, отражает характер влияния их на иммунологические и метаболические процессы.

Динамика изменения зараженности карпов дактилогирусами после введения гормонов стресса аналогична ранее полученным данным (Микряков и др., 2009). Снижение индекса обилия живых и увеличение доли неживых дактилогирид после введения инсулина, видимо, обусловлено иммуностимулирующим действием гормона поджелудочной железы и активацией анаболических процессов, и, как следствие, уменьшение содержания в организме рыб продуктов распада белков, жиров и углеводов, выделяемых в составе слизи, необходимых для роста, развития и размножения моногеней. О значительном влиянии инъецированного инсулина на углеводный обмен у рыб указывают результаты опытов Э. М. Плисецкой и В. В. Кузьминой (Кузьмина, 1971; Плисецкая, Кузьмина, 1971; Плисецкая, 1975; Кузьмина, 2000). В своих работах они показали, что под влиянием инсулина увеличивается содержание гликогена, протеинов и липидов в печени, способствует образованию в мышцах гликогена из глюкозы, вызывает гипогликемию, инициирует процессы неогенеза белков и жиров из углеводов в тканях и органах рыб.

Таким образом, полученные данные дают основание считать, что повышение значений индекса обилия *D. vastator* у рыб после введения адреналина и гидрокортизона связано со снижением функции иммунной защиты хозяина и повышением содержания доступных для паразитов питательных веществ. Введение инсулина, наоборот, оказывает стимулирующее действие на иммунитет и анаболические процессы, вызывая снижение содержания в крови продуктов распада белков, углеводов и жиров, тем самым лишает паразитов пищи и вызывает их гибель.

Полученные результаты подтверждают ранее выдвинутое положение о том, что одной из основных причин нарушения паразито-хозяинных отношений в системе *D. vastator—С. carpio* следует считать стрессиндуцируемый дисбаланс гормонального статуса, обусловленный дизрегуляцией образования гормонов, регулирующих иммунологические и метаболические процессы.

Иммунитет рыб к дактилогирусам и другим моногенетическим сосальщикам, согласно сформулированной нами гипотезе (Микряков, 1991), обусловлен отсутствием или дефицитом доступных для роста и размножения паразитов питательных веществ, элиминирующихся из организма хозяина в составе слизи, а также структурно-функциональным состоянием иммунной системы, подавляющей развитие паразитов.

Список литературы

- Бауер О. Н. 1959. Экология паразитов пресноводных рыб (Взаимоотношения паразита со средой обитания). В сб.: Паразиты пресноводных рыб и биологические основы борьбы с ними. Л.: Изв. ГосНИОРХа. 49: 5—185.
- Бауэр О. Н., Мусселиус В. А., Стрелков Ю. А. 1981. Болезни прудовых рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность. 320 с.
- Быховская-Павловская И. Е. 1985. Паразиты рыб. Руководство по изучению. Л.: Наука. 122 с.
- Быховский Б. Е. 1957. Моногенетические сосальщики, их система и филогения. М.; Л.: АН СССР. 509 с.
- Головина Н. А., Стрелков Ю. А., Воронин В. Н. и др. 2003. Ихтиопатология. М.: МИР. 448 с.
- Кеннеди К. 1978. Экологическая паразитология. М.: Мир. 230 с.
- Корнева Е. А., Шхинек Э. К. 1988. Гормоны и иммунная система. Л.: Наука. 251 с.
- Кузьмина В. В. 1971. Влияние инсулина на уровень гликемии пресноводных костистых рыб. В сб.: Биология и физиология пресноводных организмов. Л.: Наука. 190—198.
- Кузьмина В. В. 2000. Гормональная регуляция метаболизма и процессов экзотрофии у рыб. Полифункциональность и полипотентность (обзор). Эволюционная биохимия и физиология. 36 (6): 515—527.
- Лав Р. М. 1976. Химическая биология рыб. М.: Пищевая промышленность. 350 с.
- Микряков В. Р. 1981. Влияние гормональных препаратов коры надпочечников на устойчивость рыб к сапролегниозу. В сб.: Организация мероприятий по борьбе с инфекционными болезнями рыб. М.: ВАСХНИЛ. 45—47.
- Микряков В. Р. 1991. Закономерности формирования приобретенного иммунитета у рыб. Рыбинск: ИБВВ РАН. 153 с.
- Микряков В. Р., Микряков Д. В. 2008. Гормональная регуляция формирования адаптивного иммунитета рыб к бактериям. Ветеринарная медицина. 90: 326—330.
- Микряков Д. В., Микряков В. Р., Степанова М. А. 2009. Исследование влияния гормонов стресса (адреналина и глюкокортикоидов) на зараженность карпа *Cyprinus carpio* L. дактилогирусами *Dactylogyrus* sp. Паразитология. 43 (1): 90—96.
- Наумова А. М., Ройтман В. А. 1989. Паразитарные болезни разводимых рыб, их профилактика. Итоги науки и техники. Сер. Зоопаразитология. М.: ВИНИТИ. 10. 212 с.
- Плисецкая Э. М. 1975. Гормональная регуляция углеводного обмена у низших позвоночных. Л.: Наука. 215 с.
- Плисецкая Э. М., Кузьмина В. В. 1971. Уровень гликемии круглоротых (Cyclostomata) и рыб (Pisces). Вопросы ихтиологии. 11 (6): 1077—1087.
- Шрейбер В. 1987. Патофизиология желез внутренней секреции. Прага: Авиценум.
- Smith L. S. 1982. Introduction to fish physiology. T.F.H., Publication. 166 p.
- Van Muiswinkel W., Vervoorn-Van Der Wal B. 2006. The immune system of fish. Fish Diseases and Disorders. 1: 678—701.
- Wedemeyer G. A., Meyer F. P., Smith L. 1976. Environmental stress and fish diseases. T.F.H., Publication. 128 p.
- Wendelaar Bonga, Sjoerd E. 1997. The stress response in fish. Physiological Reviews. 77 (3): 591—625.

THE INFLUENCE OF INSULIN ON CONTAMINATION OF THE COMMON CARP CYPRINUS CARPIO BY THE MONOGENETIC FLUKE DACTYLOGYRUS VASTATOR

V. R. Mikryakov, D. V. Mikryakov, M. A. Stepanova

Key words: carp, hormones, dactylogyrids, contamination.

SUMMARY

The influence of insulin on the contamination of the carp *Cyprinus carpio* with the monogenetic fluke *Dactylogyrus vastator* is studied. Fishes reacted to the introduction of the hormon by the decrease in the degree of intensity of infection and by the increase in the number of lifeless parasites on gills, by contrast to control fishes and fishes processed with stress hormones (adrenaline and cortisol). We assume that the decrease in the abundance index in live monogenetic fluke and the increase in the number of lifeless oness is caused by the deficiency of nutrients accessible for the growth and development caused by activation of hormone-induced anabolic processes and stimulation of mechanisms of immune protection.